

DESENVOLVIMENTO INICIAL DE *PLEOPELTIS LEPIDOPTERIS* (POLYPODIACEAE–POLYPODIOPSISIDA)¹

Daniela Viviani², Marisa Santos³ & Áurea Maria Randi^{2,4}

RESUMO

(Desenvolvimento inicial de *Pleopeltis lepidopteris* (Polypodiaceae-Polypodiopsida)) Frondes férteis de *Pleopeltis lepidopteris* (Langsd. & Fisch.) de la Sota foram coletadas em Florianópolis, SC. Esporos foram separados dos esporângios por filtragem em papel entretela e armazenados a $7 \pm 1^\circ\text{C}$, esterilizados superficialmente e inoculados em frascos contendo 20 ml de meio mineral proposto por Mohr e modificado por Dyer, suplementado por Benlate[®] (25 mg.l⁻¹). A germinação ocorreu em sala de cultivo a $25 \pm 2^\circ\text{C}$ (30mmol m⁻²s⁻¹) e fotoperíodo de 16 horas. Esporos de *P. lepidopteris* foram considerados potencialmente viáveis quando totalmente preenchidos com substâncias de coloração amarela. Os esporos são monoletes, com aproximadamente 40 x 62 µm, apresentando depósitos esféricos na superfície do perisporo papilada-granulada. Após 15 dias de inoculação de esporos, os gametófitos filamentosos apresentam uma célula rizoidal alongada, aclorofilada, uma fileira de quatro a sete células clorofiladas. Aos 30 dias a fase laminar espatulada está mais evidente e mostra um meristema apical central; após 45 dias os gametófitos são laminares e cordiformes; e após 120 dias de cultivo, o meristema apical é nítido enquanto tricomas unicelulares e estruturas reprodutivas são mais evidentes. Foi estudada a morfoanatomia de esporófitos de *P. lepidopteris* obtidos após a inoculação de esporos. A morfoanatomia das frondes de esporófitos jovens mostra que essa espécie apresenta escamas em ambas as faces das frondes, epiderme uniestratificada e mesofilo constituído por parênquima esponjoso. Estômatos do tipo anomocítico ocorrem na face abaxial e as células subsidiárias possuem paredes anticlinalis sinuosas. O feixe vascular da raque é anficrival delimitado por endoderme.

Palavras-chave: esporo, esporófito, gametófito, morfoanatomia, *Pleopeltis lepidopteris*.

ABSTRACT

(Initial development of *Pleopeltis lepidopteris* (Langsd. & Fisch.) de la Sota) Spores of *Pleopeltis lepidopteris* (Langsd. & Fisch.) de la Sota were removed from fertile fronds collected in the isle of Santa Catarina, Brazil, separated from debris by filtering through lens paper and stored in glass jars at $7 \pm 1^\circ\text{C}$. Superficially sterilized spores were sown in bottles containing 20 ml of mineral medium as proposed by Mohr, modified by Dyer and supplemented with Benomyl (25 mg.l⁻¹). The germination was conducted in growth room, at $25 \pm 2^\circ\text{C}$ (30 mmol m⁻²s⁻¹) and a 16 h-photoperiod. Spores of *Pleopeltis lepidopteris* considered to be viable were totally filled with yellow substances. The spores are monolete, with approximately 40 x 62 µm, and show spherical deposits in the smoothly papillate-granulate perispore. After 15 days of spore inoculation, the filamentous gametophyte present a long rhizoidal cell, without chlorophyll, a line of four to seven chlorophyllated cells; after 30 days, the spatulated laminar phase is more evident, and show a central apical meristem; after 45 days, the gametophyte are laminar and present the heart shape; after 120 days of culture the apical meristem is conspicuous; unicellular trichomes and reproductive structures are very evident. The morphoanatomy of the leaves of young sporophyte show scales in the frond faces, unistratified epidermis, the mesophyll consisted of a palisade and spongy parenchyma. The anomocytic stomata are presented in the abaxial frond face and the subsidiary cells show sinuous anticlinal walls. The rachis vascular anficrival tissue is delimited by the endoderm.

Key words: gametophyte, morphoanatomy, *Pleopeltis lepidopteris*, spore, sporophyte.

INTRODUÇÃO

Existem mundialmente entre 9.000 a 12.000 espécies de pteridófitas, das quais cerca de 3.250 ocorrem nas Américas (Tryon & Tryon 1982).

As Regiões Sul e Sudeste do Brasil contêm cerca de 600 espécies e abrigam um dos centros de endemismo e especiação de pteridófitas no Continente Sul-Americano (Tryon 1972).

Artigo recebido em 08/2008. Aceito para publicação em 11/2009.

¹Parte da dissertação de Mestrado de Daniela Viviani (Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal, UFSC).

²Universidade Federal de Santa Catarina, Depto. Botânica, Lab. Fisiologia Vegetal, 88040-900, Florianópolis, SC, Brasil.

³Universidade Federal de Santa Catarina, Depto. Botânica, Lab. Anatomia Vegetal, 88040-900, Florianópolis, SC, Brasil.

⁴Autora para correspondência: amrandi@ccb.ufsc.br

Segundo Tryon & Tryon (1982) cerca de 70% das espécies de pteridófitas ocorrem em ambientes tropicais úmidos. De acordo com Labiak & Prado (1998), no Brasil, as pteridófitas ocorrem preferencialmente nas áreas de floresta atlântica. Contudo, algumas espécies são encontradas nas regiões semi-áridas de caatinga no nordeste brasileiro (Barros *et al.* 1989; Ambrósio & Barros 1997).

O gênero *Pleopeltis* L. é representado por plantas epífitas, rupícolas ou terrícolas. As espécies do gênero apresentam caule horizontal curto a longo-reptante, moderadamente crasso a delgado, geralmente ramificado, com escamas peltadas a pseudopeltadas; superfície glabra ou pilosa, margem inteira ou denteada. As frondes são monomorfas a levemente dimorfas, agrupadas ou espaçadas entre si; o pecíolo é anguloso, sulcado, articulado com o caule, com um feixe vascular na base enquanto a lâmina geralmente é pinatífida, glabra ou pubescente. Os soros são arredondados ou alongados, ocasionalmente elípticos, abaxiais, sem indúcio ou protegidos por escamas ao redor, com ou sem paráfises. Os esporos são elipsoidais, monoletes, apresentando superfície muitas vezes levemente verrucosa, tuberculada ou papilada (Tryon & Tryon 1982; Zuloaga *et al.* 2007).

Segundo de la Sota (1965), Zuloaga *et al.* (2007) e Salino (2009), o grupo *Polypodium lepidopteris* = *Pleopeltis lepidopteris*, encontra-se ricamente diversificado no Brasil e pertencem a esse grupo as espécies: *Pleopeltis lepidopteris* (Langsd. & Fisch.) de la Sota, *Pleopeltis minarum* (Weath.) Salino, *Pleopeltis monoides* (Weath.) Salino, *Pleopeltis trinidadensis* (Brade) Salino e *Pleopeltis bradei* (de la Sota) Salino. Todas apresentam estruturas xeromórficas e são revivescetes. *Pleopeltis hirsutissima* (Raddi) de la Sota e *P. monoides* parecem ocorrer em florestas, *P. trinidadensis* parece ser elemento endêmico, do tipo insular, *P. minarum* e *P. bradei* ocorrem nas regiões serranas do cerrado e *P. lepidopteris* se comporta como espécie litorânea. A espécie *Pleopeltis*

lepidopteris (Langsd. & Fisch.) de la Sota pertence à família Polypodiaceae, ordem Polypodiales, classe Polypodiopsida segundo a classificação proposta por Smith *et al.* (2006).

Pleopeltis lepidopteris (Langsd. & Fisch.) de la Sota = *Polypodium lepidopteris* (Langsd. & Fisch.) Kunze (Polypodiaceae – Polypodiales, Polypodiosida) (Zuloaga *et al.* 2007, Smith *et al.* 2006) está entre as plantas medicinais encontradas nas florestas úmidas do sul da América, cujas partes terapêuticas utilizadas são frondes, raízes e rizomas. O medicamento fitoterápico denominado Rheumoflora®, registrado em 1924, é indicado como analgésico e anti-inflamatório e associa Cainca (*Chiococca brachiata* - Rubiaceae) e *P. lepidopteris* possuindo em sua composição glicosídeos (samambaína), saponinas, alcalóides, ácidos orgânicos (ácido lepidiptérico, ácido lepdoptânico), salicilatos, resinas, fitosteróis, óleos essenciais, substâncias albuminóides, etc. (Gazda *et al.* 2006).

Pleopeltis lepidopteris é um dos principais elementos da flora vascular da vegetação de praia e dunas frontais (área de restinga), sendo uma das espécies herbáceas mais características (Resolução CONAMA nº 261/99). Para que uma espécie se estabeleça na restinga, principalmente nas dunas móveis e semi-fixas, ela deve apresentar algumas adaptações, tais como: porte reduzido ou rasteiro, sistema radicular profundo, folhas reduzidas, revestidas com uma camada de cera, pequeno número de estômatos na face abaxial das folhas pilosas, limbo em geral de consistência coriácea e brilhante, que reflete os raios solares (Bresolin 1979; Caruso 1990). Para Schwartsburd (2006), em seu estudo sobre pteridófitas do Parque Estadual de Vila Velha (PEVV), Paraná, esta espécie possui hábito terrícola nos campos gerais (regiões mais elevadas), sendo também rupícola do cume das formações areníticas e arenitos isolados. Segundo esse autor, apesar de esta ser uma espécie preferencialmente litorânea, das restingas, foi encontrada, no PEVV, a aproximadamente 200 km da costa, numa

altitude de cerca de 1.000 m, em ambiente relativamente similar à restinga, qual seja, heliófilo e de solo arenoso.

Aspectos da germinação de esporos de *P. lepidopteris* e do crescimento de esporófitos jovens foram analisados por Viviani & Randi (2008). Neste estudo, tem-se por objetivo analisar aspectos do desenvolvimento gametofítico e da morfoanatomia de frondes de esporófitos jovens de *P. lepidopteris* obtidos a partir de germinação de esporos *in vitro* e contribuir para o conhecimento sobre seu desenvolvimento inicial.

MATERIAL E MÉTODOS

Frondes férteis de *Pleopeltis lepidopteris* foram coletadas no litoral leste da Ilha de Santa Catarina, na Restinga da Praia da Joaquina, situada no distrito da Lagoa da Conceição, em Florianópolis, Santa Catarina. Essa área pertence ao Parque Municipal das Dunas da Lagoa da Conceição, unidade de conservação de proteção integral, segundo Decreto Municipal nº 1.261, de 23 de maio de 1975 (CECCA 1997). A espécie foi identificada pelo Dr. Daniel de Barcellos Falkenberg, e uma exsicata (FLOR 22691) foi depositada no Herbário FLOR do Departamento de Botânica da UFSC. Após a coleta, realizada em 25 de maio de 2005, as frondes foram postas para secar em bandejas plásticas sobre papel de filtro à temperatura ambiente, a fim de induzir a abertura dos esporângios e liberação dos esporos. Em seguida, os esporos foram separados dos esporângios por filtragem em entreteia de papel (TNT[®]) e armazenados em frascos de vidro sob refrigeração a $7 \pm 1^\circ\text{C}$.

Para análise em microscópio óptico, os esporos foram colocados sobre lâmina de vidro com uma gota de água e cobertos com lamínula. O material foi fotografado em microscópio óptico Leica MPS 30 DMLS. Para análise em microscópio eletrônico de varredura, alíquotas de esporos frescos foram colocadas sobre suporte de alumínio, com auxílio de fita de carbono dupla face e cobertas com 20nm de ouro em metalizador Baltec,

modelo CED 030 (Bozzola & Russel 1991). A análise e documentação foram efetivadas em Microscópio Eletrônico de Varredura, marca Phillips, modelo XL30.

Para obtenção de gametófitos e esporófitos, esporos foram esterilizados superficialmente pela imersão, durante 20 minutos, em solução de hipoclorito de sódio comercial (com 2% de cloro ativo) a 10%, acrescida de uma gota de detergente líquido comercial e em seguida, os esporos foram enxaguados em água destilada autoclavada e filtrados sobre papel de filtro com auxílio de bomba de vácuo. A seguir foram inoculados em frascos Erlenmeyers contendo 15 ml de solução nutritiva de Mohr (1956), modificada por Dyer (1979), acrescida de Benlate[®] a 0,1% para evitar contaminação por fungos. A solução foi previamente esterilizada em autoclave por 20 minutos a uma temperatura de 120°C . Os esporos germinaram em sala de cultivo a $25 \pm 2^\circ\text{C}$, com 16 horas de luz a intensidade de $30 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$.

Amostras de gametófitos foram coletadas e fixadas quinzenalmente após a inoculação dos esporos, até o início do aparecimento de esporófitos. A fixação das amostras foi feita em glutaraldeído a 2,5%, em tampão fosfato de sódio 0,1M pH 7,2 (Bozzola & Russel 1991). O material foi posteriormente lavado no mesmo tampão e desidratado até etanol 70° GL, para conservação das amostras. Gametófitos ou segmentos de gametófitos foram colocados sobre lâminas com água e cobertos com lamínulas para observação em microscopia óptica. Foi analisado também material fresco com 120 dias de cultivo.

Para obtenção de esporófitos, após 30 dias de inoculação em solução nutritiva, gametófitos filamentosos foram transferidos para bandejas de polipropileno transparente com tampa, contendo um substrato constituído de areia, composto comercial Húmus Aduplan[®] e terra roxa estruturada na proporção de 1:1:1. O substrato foi previamente esterilizado em autoclave por 60 minutos a uma temperatura de 120°C . As bandejas foram mantidas em

sala de crescimento, com irradiância de aproximadamente $22 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, e a iluminação foi obtida pelo uso de lâmpadas fluorescentes brancas em regime de 16h de luz. A partir do surgimento dos primeiros esporófitos foi realizada uma repicagem aleatória de aproximadamente 100 gametófitos para duas bandejas transparentes de polietileno contendo o mesmo substrato, sendo transplantados 50 (cinquenta) gametófitos por bandeja. Os esporófitos foram posteriormente transferidos individualmente, para vasos de 125 ml contendo o substrato utilizado anteriormente e acondicionados em bandejas plásticas transparentes com tampa para evitar ressecamento e mantidos nas mesmas condições anteriormente citadas.

Algumas amostras da região média dos folíolos dos esporófitos foram seccionadas à mão-livre, com auxílio de lâmina apropriada.

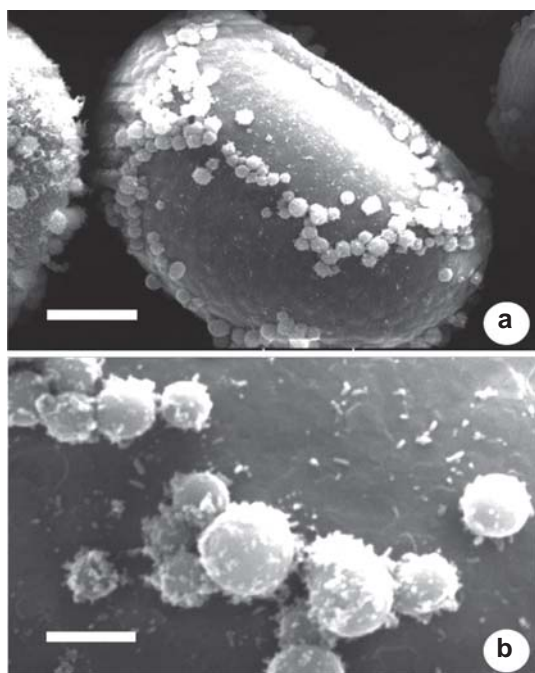


Figura 1 – Esporos de *Pleopeltis lepidopteris* (MEV). a. vista geral dos esporos; b. detalhes da superfície do perispofo mostrando glóbulos em detalhes. Barra = 2 μm (b); 50 μm (a).

Figure 1 – Spores of *Pleopeltis lepidopteris* under SEM. a. general spore view; b. details of the surface of the perispofo showing globules. Bar = 2 μm (b); 50 μm (a).

Foram feitas secções paradérmicas do material *in vivo*, para observação dos estômatos e secções transversais do folíolo para observação dos tecidos constituintes e escamas.

RESULTADOS

Os esporos de *Pleopeltis lepidopteris*, sob microscópio eletrônico de varredura (MEV), são monoletes e, revestindo parcialmente a superfície do perispofo papilado-granulado, existem glóbulos de aproximadamente 2 μm de diâmetro que se acham dispersos ou densamente agrupados (Fig. 1a-b). A microscopia óptica evidenciou a distinção do citoplasma de esporos viáveis (Fig. 2a) e inviáveis, destacando que esporos inviáveis apresentam pouco conteúdo celular, ou até mesmo não o possuem.

O padrão de desenvolvimento gametofítico de *P. lepidopteris* é do tipo drinarióide. Nas figuras 2b e 2c observam-se gametófitos obtidos aos 15 dias de inoculação de esporos apresentando filamento inicial de quatro a sete células protálicas clorofiladas e uma ou duas células rizoidais alongadas, aclorofiladas e de coloração pardo-escuro. Aos 15 dias após a inoculação dos esporos, alguns gametófitos já apresentam as primeiras divisões laterais do filamento vegetativo formando a fase laminar (Fig. 2d-e). Posteriormente, aparece a célula meristemática em forma de cunha após uma divisão em sentido oblíquo de uma das células terminais. Divisões mitóticas formam um meristema pluricelular que se estabelece em uma posição central e apical (Fig. 2f). Após 45 dias, os gametófitos adquirem a forma cordiforme e evidencia-se o meristema apical central em reentrância bem definida da face ventral (Fig. 2g, 3a-c); possuem tricomas unicelulares dispostos nas margens onduladas; sendo rizóides abundantes, são basais e de coloração parda.

Entre 60 e 120 dias, arquegônios tornam-se evidentes e aparecem na face abaxial do gametófito, na região basal próxima aos rizóides (Fig. 3d); são multicelulares com quatro

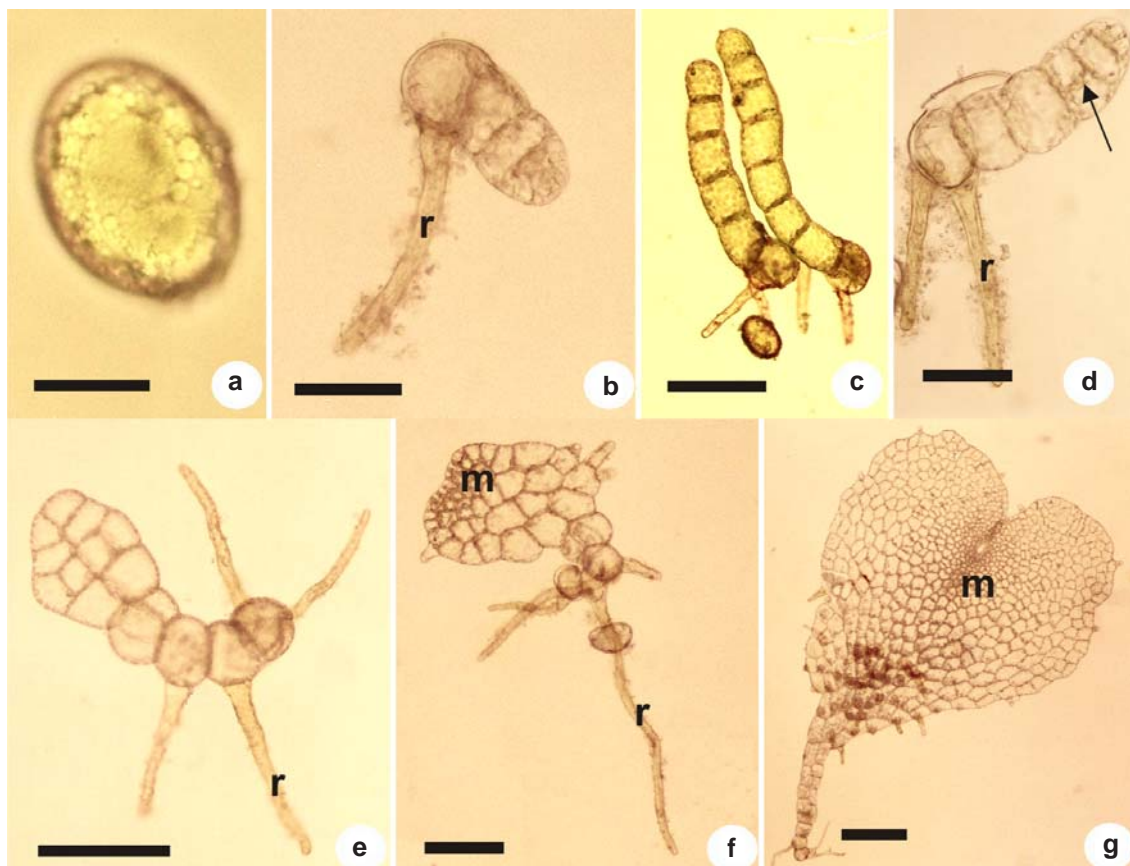


Figura 2 – Padrões de germinação e desenvolvimento gametofítico de *Pleopeltis lepidopteris* – a. esporo viável; b-c. filamento germinativo após 15 dias de inoculação dos esporos; d. primeiras divisões laterais do filamento vegetativo após 15 dias de inoculação dos esporos (seta); e-f. gametófito na fase laminar espatulada após 30 dias de inoculação dos esporos; f. gametófito cordiforme aos 45 dias de inoculação de esporos. Rizóide = r; meristema apical pluricelular = m. Barra = 25 μm (a); 50 μm (b, d-f); 100 μm (c); 200 μm (g).

Figure 2 – Stages of germination and gametophytic development of *Pleopeltis lepidopteris* – a. viable spore; b-c. germinative filament after 15 days of spore inoculation; d. first lateral division of the vegetative filament after 15 days of spore inoculation (arrow); e-f. gametophyte in the spatulated laminar stage after 30 days of spore inoculation; f. heart-shaped gametophyte after 45 days of spore inoculation. Rhizoid = r; apical pluricellular meristem = m. Bar = 25 μm (a); 50 μm (b, d-f); 100 μm (c); 200 μm (g).

colunas de células e no centro observa-se o poro arquegonial que possibilita a entrada dos anterozóides (Fig. 3e-f). Não foram observados anterídios nos materiais analisados.

A figura 4 mostra esporófitos jovens de *P. lepidopteris* com 283 e 343 dias de cultivo (Fig. 4a-b). Nestes indivíduos observam-se escamas, pelo aspecto aveludado e esbranquiçado, principalmente nas regiões apicais.

A secção transversal do folíolo de esporófitos jovens (com 343 dias) mostra nervura mediana, expansão da lâmina e escamas em ambas as faces do folíolo (Fig. 5a); a epiderme é

uniestratificada, o mesofilo é constituído por parênquima tendendo ao paliádico e parênquima esponjoso e as escamas são pluricelulares e bastante ramificadas (Fig. 5b). A vista frontal da superfície epidérmica evidencia escama com ramificações (Fig. 5c). Nas imagens detalhadas da base da escama (Fig. 5d) nota-se que a parede terminal não é espessada, e que paredes laterais o são. Nestas formam-se ramificações laterais pontiagudas.

Em ambas as faces, as células epidérmicas possuem paredes anticlinais sinuosas; não tendo sido observados idioblastos. Estômatos são do

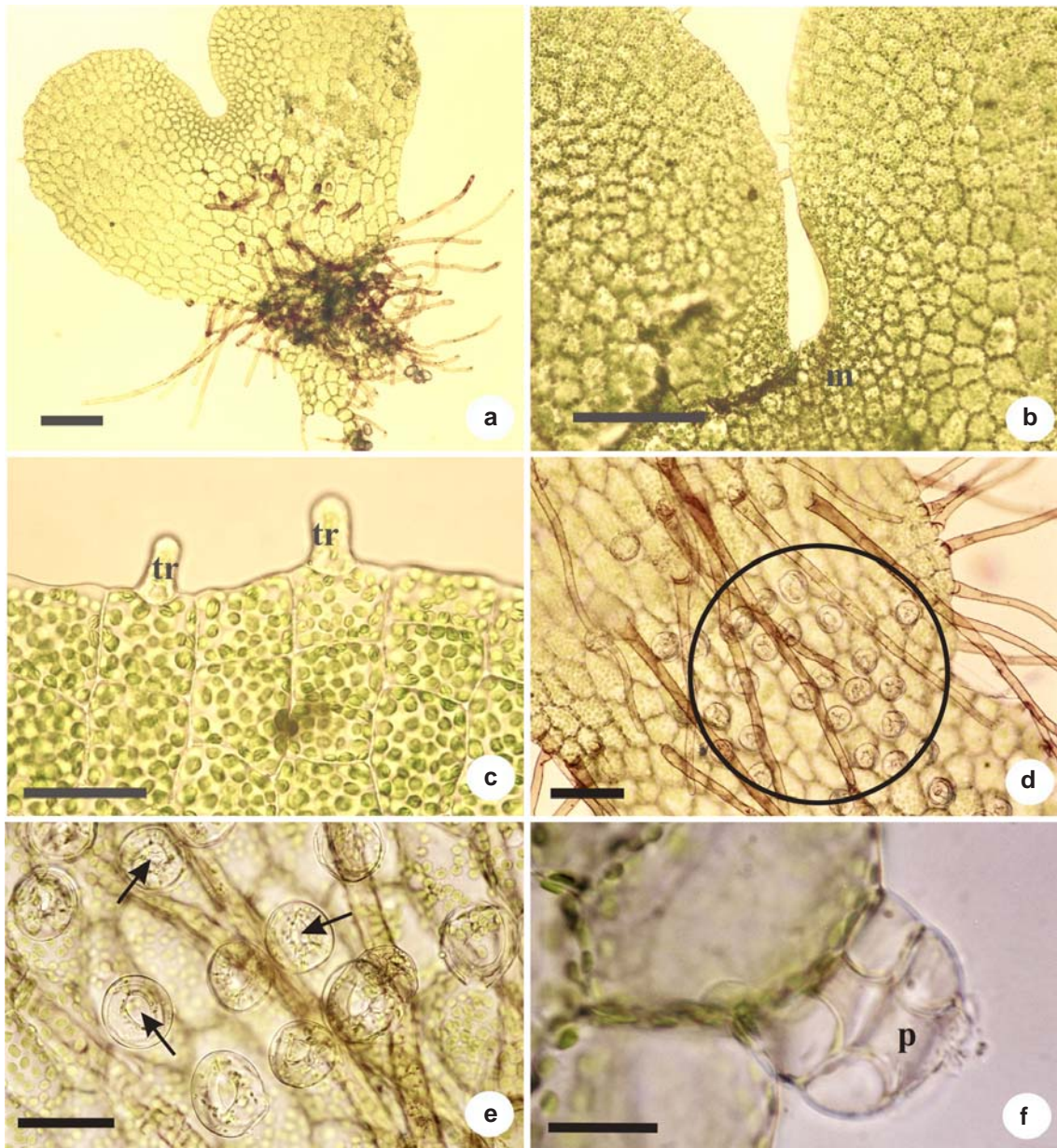


Figura 3 – Gametófitos de *Pleopeltis lepidopteris* com 120 dias de cultivo. a. vista ventral de gametófito cordiforme; b. região meristemática (m); c. tricomas unicelulares (tr) dispostos nas margens; d. arquegônios na região basal dorsal, próximos aos rizóides (círculo); e. arquegônios (setas indicando poro); f. vista lateral de arquegônio detalhando o poro arquegônial (p). Barra = 20 μ m (f); 50 μ m (c, e); 100 μ m (d); 200 μ m (a-b).

Figure 3 – Gametophyte of *Pleopeltis lepidopteris* after 120 days of culture. a. ventral view of heart-shaped gametophyte; b. meristematic region (m); c. unicellular trichomes (tr) in the gametophyte edges; d. archegonia in the dorsal basal region, next to the rhizoids (circle); e. archegonia (arrows indicating pore); f. lateral view of archegonia evidencing the archegonia pore (p). Bar = 20 μ m (f); 50 μ m (c, e); 100 μ m (d); 200 μ m (a-b).

tipo anomocítico e estão presentes apenas na face abaxial da epiderme (Fig. 6a). No folíolo, em uma nervura de menor calibre, observa-se feixe vascular delimitado por endoderme com paredes espessadas em “U” (Estrias de

Caspary), epiderme uniestratificada e fibras sub-epidérmicas (Fig. 6b). A figura 6c apresenta secção transversal da raque mostrando feixe vascular anficrival, delimitado por endoderme densamente, córtex com

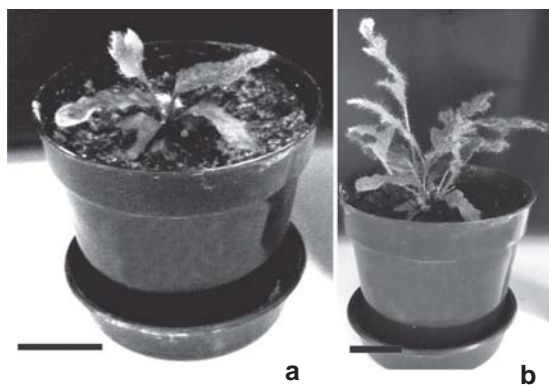


Figura 4 – Esporófitos jovens de *Pleopeltis lepidopteris*. a. 283 dias de cultivo; b. 343 dias de cultivo. Barra = 2 cm.

Figure 4 – Young sporophyte of *Pleopeltis lepidopteris*. a. 283 days of culture; b. 343 days of culture. Bar = 2 cm.

presença de clorênquima, fibras subepidérmicas e epiderme uniestratificada. Em detalhe observa-se o feixe vascular da raque, o qual é delimitado por endoderme, mostrando xilema ao centro, constituído por traqueídes e contornado pelo floema (Fig. 6d).

DISCUSSÃO

Ao analisar e comparar a estrutura dos esporos bem como o desenvolvimento gametofítico de *Pleopeltis lepidopteris* com outras espécies de Polypodiaceae foram encontradas similaridades quanto ao tipo de esporos, germinação e desenvolvimento protálico (Nayar & Kaur 1969; Pérez-García *et al.* 1998; Jaramillo *et al.* 1996, 2003).

Os resultados obtidos em MEV estão de acordo com Tryon & Tryon (1982) e Lorscheitter *et al.* (2005), que citam os esporos de *P. lepidopteris* como elipsoidais, monoletes e papilados. Pérez-García *et al.* (1998), estudando o desenvolvimento gametofítico de três espécies do gênero *Phlebodium* (Polypodiaceae) encontraram para as três espécies esporos elipsoidais, monoletes e de coloração amarela; para *Phlebodium araneosum* (M. Martens & Galeotti) Mickel & Beitel e *P. pseudoaureum* (Cav.) Lellinger esporos com 40-48 μm de diâmetro e superfície papilada; os esporos de *P. decumanum* (Willd.)

J. Smith apresentaram um diâmetro de 36-40 μm e superfície verrugosa. Esporos dessas espécies são, portanto, similares em formato e dimensões, aos esporos de *P. lepidopteris*.

Ramírez & Pérez-García (1998) estudando a fase gametofítica de *Microgramma nitida* (J. Sm.) A.R. Sm. (Polypodiaceae) observaram, depois de 16 a 20 dias de início da germinação, um filamento de seis células protálicas com muitos cloroplastos e rizóide de cor pardo-escuro e hialino, semelhante ao rizóide de *P. lepidopteris*. Mais tarde aparece a célula meristemática apical e forma-se um gametófito espatulado aos 30 dias depois da germinação. Após 60 dias do início da germinação diferenciam-se tricomas marginais e superficiais unicelulares e translúcidos, coincidindo com o surgimento do ápice cordiforme, à semelhança do padrão encontrado para *P. lepidopteris*. Os tricomas que ocorrem nos gametófitos de *P. lepidopteris* são muito semelhantes aos observados para espécies de outro gênero de Polypodiaceae como *Phlebodium araneosum* e *P. pseudoaureum* (Pérez-García *et al.* 1998). Nessas espécies, os tricomas ocorrem nas margens e na lâmina do gametófito e se caracterizam por serem unicelulares curtos e não glandulares.

De acordo com Nayar & Kaur (1969) o padrão de desenvolvimento gametofítico da maioria das espécies dos gêneros de Polypodiaceae é do tipo drinarióide, que se caracteriza pelo estabelecimento de um meristema apical após a formação de tricomas marginais. Tal padrão foi aqui observado para *Pleopeltis lepidopteris*. Segundo Nayar & Kaur (1969), esse padrão de desenvolvimento gametofítico ocorre também para espécies de Cheiropleuriaceae, Dipteridaceae, Lomariopsidaceae, Loxsomaceae, Thelypteridaceae e Gleicheniaceae.

Chiou & Farrar (1997) estudaram o desenvolvimento gametofítico de sete espécies de pteridófitas epífitas representando seis gêneros de Polypodiaceae: *Campyloneurum*,

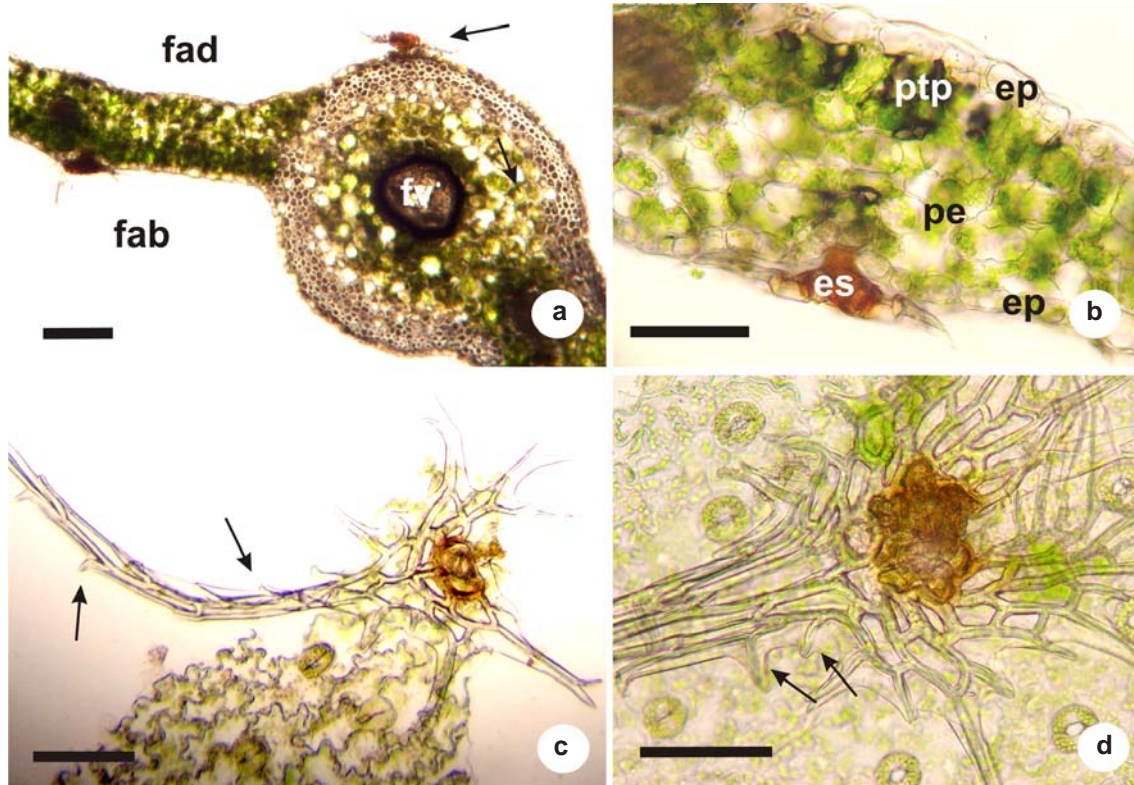


Figura 5 – Morfoanatomia dos esporófitos de *Pleopeltis lepidopteris* – a. secção transversal de folíolo mostrando nervura mediana e expansão da lâmina foliar, destacando-se escamas em ambas as faces (setas), face adaxial (fad), face abaxial (fab) e feixe vascular (fv); b. detalhe da lâmina em secção transversal, evidenciando epiderme uniestratificada (ep), escama pluricelular ramificada (es), mesofilo constituído por parênquima tendendo ao paliçádico (ptp) e parênquima esponjoso (pe); c. vista frontal da superfície epidérmica evidenciando escama; note aspecto pontiagudo das ramificações da escama (seta); d. detalhe da base da escama: parede terminal não espessada (seta) e paredes laterais espessadas (cabeça de seta). Barra = 200 μm (a); 100 μm (b-d).

Figure 5 – Morphoanatomy of sporophytes of *Pleopeltis lepidopteris* – a. transversal section of the leaflet showing the midrib and the expansion of the foliar lamina; scales in both the faces (arrows), adaxial face (fad), abaxial face (fab), vascular bundle (fv); b. detail of the blade in transversal section, evidencing unicellular epidermis (ep), ramified pluricellular scale (es), mesophyll formed by a parenchyma tending to the palisadic (ptp) and spongy parenchyma (pe); c. frontal view of the epidermic surface evidencing scale; observe the needle aspect of the scale ramifications (arrow); d. detail of the scale base: the terminal wall is not thick (arrow) and the lateral walls are thick (arrow head). Bar = 200 μm (a); 100 μm (b-d).

Lepisorus, *Microgramma*, *Phlebodium*, *Phymatosorus* e *Polypodium* e constataram que inicialmente todas apresentaram o padrão de desenvolvimento do tipo drinarióide, mas que os tipos *Ceratopteris*, *Adiantum* e *Aspidium* também ocorreram em algumas das espécies. Esses autores comentam que o desenvolvimento gametofítico inicial pode apresentar plasticidade e talvez seja uma característica de uso limitado para classificação de espécies, já que há muita similaridade entre gametófitos jovens das diferentes espécies.

Ogura (1972) relatou que nos esporófitos de pteridófitas os tricomas são geralmente

filiformes, consistem de uma ou mais células e podem se ramificar; enquanto que as escamas são geralmente planas ou achatadas e grandes, constituídas por numerosas células. Sendo característicos em espécies, gêneros ou famílias, podem ser usados na identificação sistemática. Segundo o mesmo autor, a família Polypodiaceae apresenta ambos os tipos.

Escamas ocorrem em folíolos de *P. lepidopteris* e também em outras espécies do gênero. Sota (1965) descreveu as escamas de *P. lepidopteris* como gonfóides, com base estrelada, abruptamente terminada em uma grande porção apical, filiforme, com margem

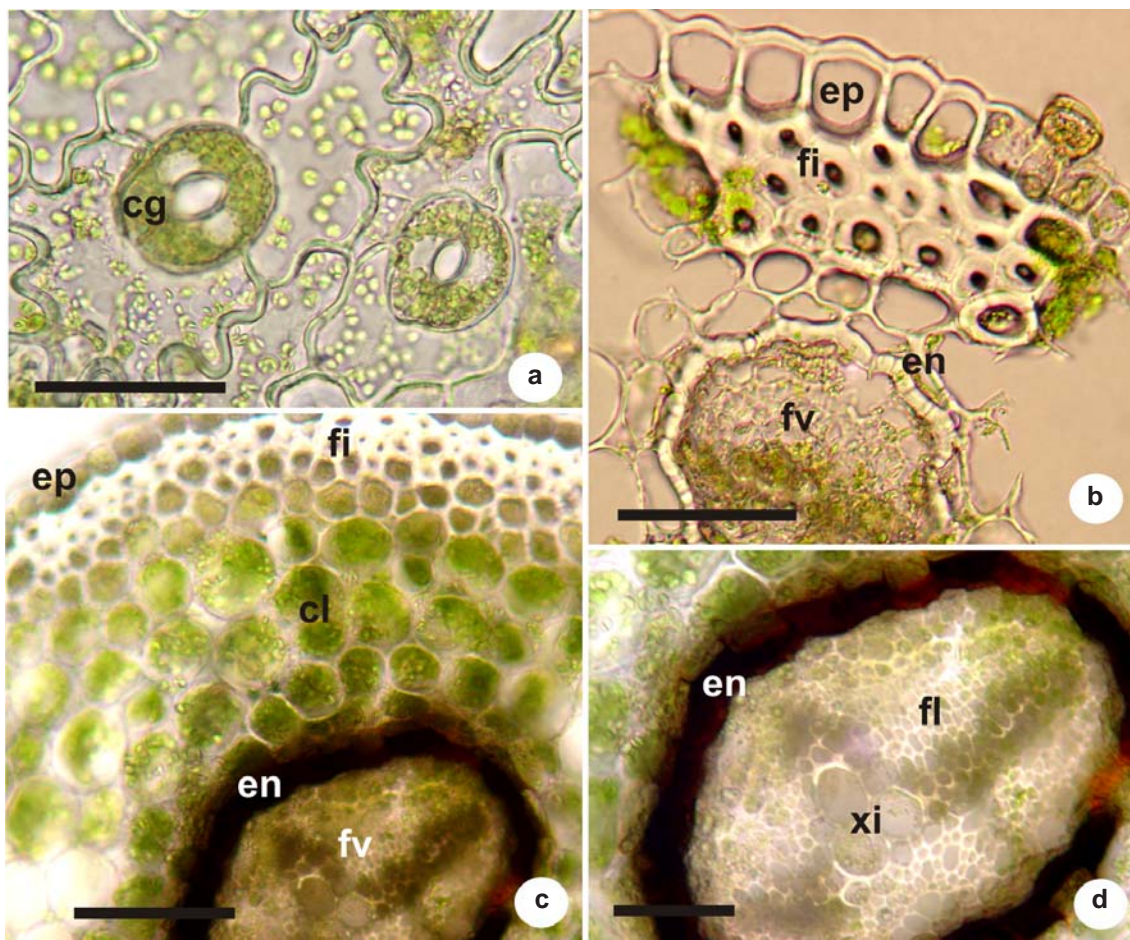


Figura 6 – Morfoanatomia dos esporófitos de *Pleopeltis lepidopteris* – a. secção paradérmica da epiderme na face abaxial, destacando células epidérmicas com paredes anticlinais sinuosas e estômatos (célula-guarda - cg); b. secção transversal mostrando nervura mediana do folíolo de menor calibre: epiderme uniestratificada formada por células de paredes delgadas (ep), fibras subepidérmicas (fi) e feixe vascular (fv) delimitado por endoderme hialina (en); c. secção transversal da raque evidenciando epiderme uniestratificada (ep), córtex mostrando fibras subepidérmicas (fi), clorênquima (cl), endoderme com pigmentação (en), e feixe vascular anficrival (fv); d. detalhe da endoderme (en) e do feixe vascular da raque, destacando xilema (xi) e floema (fl). Barra = 50 µm (a, d); 100 µm (b-c).

Figure 6 – Morphoanatomy of sporophytes of *Pleopeltis lepidopteris* – a. paradermic section of the abaxial epidermis face detaching stomata (guard-cell – cg) and epidermal cells with sinuous anticlinal walls; b. transversal section showing midrib of the smaller leaflet: unistratified epidermis formed by cells of thin walls (ep), subepidermal fibers (fi), and vascular bundle (fv) limited by endodermis; c. rachis transversal section showing unistratified epidermis (ep), cortex with subepidermal fibers (fi), chlorenchyma (cl), pigmented endodermis (en), amphicribal vascular bundle (fv); d. detail of the endodermis (en) and the rachis vascular bundle, evidencing xylem (xi) and phloem (fl). Bar = 50 µm (a, d); 100 µm (b-c).

lisa ou levemente denteada formada por longas células cujas paredes celulares são delgadas e hialinas; a parte basal possui margem fortemente denteada, com células mais ou menos isodiamétricas, cujas paredes são mais espessas. Esse autor não apresenta ilustração de escamas de *P. lepidopteris*, mas essas descrições corroboram com os dados encontrados no presente trabalho.

Ranal (1993) analisou o desenvolvimento de *P. hirsutissima* e constatou que esporófitos jovens apresentam escamas em ambas as faces, que se caracterizam como deltóides basipeltadas e com margem ligeiramente denteada. Strehl & Miranda (1997) também descreveram escamas de *P. hirsutissima* do tipo peltado, não glandular, com base alargada e ápice unisseriado. De acordo com Labiak &

Prado (1998), esporófitos de *P. hirsutissima* apresentam lâmina foliar revestida por escamas filiformes de base larga, margem hialina e ciliada.

Com relação à epiderme foliar Graçano *et al.* (2001), estudando a anatomia foliar de espécies de Pteridaceae na mesma área de estudo (PERD), observaram que todas apresentavam epiderme uniestratificada, sendo que os caracteres anatômicos mais relevantes para a identificação foram: presença de tricomas/escamas; tipos de estômatos; presença e distribuição de idioblastos na epiderme; e tipo e disposição do(s) feixe(s) vascular(es) no pecíolo. Sant'Anna *et al.* (2001) realizaram um estudo morfoanatômico em *Trichipteris atrovirens* (Langsd. & Fisch.) Tryon. (Cyatheaceae) e também observaram epiderme uniestratificada.

Em *P. lepidopteris* observou-se epiderme uniestratificada com células epidérmicas de paredes delgadas, anticlinais sinuosas e não foram observados idioblastos. Strehl & Miranda (1997) analisando alguns aspectos da anatomia de *P. hirsutissima*, também descrevem epiderme uniestratificada em secção transversal da folha e em vista frontal, estômatos anomocíticos presentes somente na face abaxial, assim como foi observado em *P. lepidopteris*. Em secção transversal do folíolo, as mesmas autoras, evidenciam o parênquima paliçádico, uni ou biestratificado, o qual ocorre somente na face adaxial. As células desse parênquima encontram-se logo abaixo da epiderme contendo grande número de cloroplastos; logo abaixo, encontra-se o parênquima esponjoso que é pluriestratificado. Em esporófitos jovens de *P. lepidopteris* observou-se parênquima tendendo ao paliçádico, pouco desenvolvido e parênquima esponjoso.

As células epidérmicas da face abaxial, em *P. lepidopteris*, apresentam-se clorofiladas, diferentemente do observado para a face adaxial, a qual não apresenta as células com essa característica. Ogura (1972) relata que as espécies representantes da Classe Filicopsida,

normalmente contêm uma pequena quantidade de cloroplastos nas células epidérmicas. Tryon & Tryon (1982), também relatam esse fato como sendo característica que ocorre em muitas pteridófitas. Graçano *et al.* (2001) observaram que a maioria das espécies do gênero *Adiantum* (Pteridaceae), apresenta células da epiderme adaxial clorofiladas. Strehl & Miranda (1997) relatam a existência de cloroplastos bem desenvolvidos nas células epidérmicas de *P. hirsutissima*. Os resultados observados no presente estudo podem estar relacionados à quantidade de luz recebida pelas plantas nas condições de laboratório. Possivelmente, a maior incidência de luz sobre a face adaxial, pode ter causado uma oxidação das clorofilas ou inativado os proplastídeos das células da face adaxial. Moléculas de clorofilas tendem a ser foto-oxidadas sob alta irradiância (Taiz & Zeiger 2004).

A foto-oxidação é um processo irreversível e envolve diretamente os pigmentos receptores de luz, os quais, ao absorverem muita luz, ficam muito tempo excitados e interagem com o O₂, produzindo radicais livres, podendo destruir os pigmentos (Taiz & Zeiger 2004). No estudo de Graçano *et al.* (2001) a coleta do material botânico foi realizada ao longo das estradas e trilhas demarcadas no Parque Estadual do Rio Doce (PERD), não sendo especificado o fator luminosidade. No presente estudo esse fator foi controlado, assim como a temperatura e o fotoperíodo. Essas diferenças apresentadas pelos dois estudos, condições naturais e condições de laboratório, respectivamente, podem ter ocasionado a diferença nos resultados obtidos. Outro fator que deve ser levado em conta é a predominância desta espécie em restingas, a pleno sol. Alta irradiância ambiental pode naturalmente reduzir os níveis de clorofilas foliares.

O estudo da morfoanatomia foliar de esporófitos jovens desenvolvidos a partir do cultivo de gametófitos mostra que frondes jovens apresentaram escamas em ambas as faces da epiderme uniestratificada, e o mesofilo

apresentou-se constituído por parênquima tendendo ao paliádico e esponjoso. Essa organização do mesofilo foliar, sem uma estrutura dorsiventral definida, pode ser uma consequência das condições abióticas utilizadas para o cultivo e desenvolvimento das plantas em laboratório. A organização anatômica, no entanto, pode mostrar adaptações ao ambiente, sobretudo aos níveis de luz.

Este estudo complementa as informações obtidas por Viviani & Randi (2008) sobre o potencial de germinação de esporos de *Pleopeltis lepidopteris*.

AGRADECIMENTOS

Daniela Viviani agradece à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES a de bolsa de mestrado e Áurea Maria Randi agradece ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq, a bolsa de produtividade em pesquisa.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ambrósio, S.T. & Barros, I.C.L. 1997. Pteridófitas de uma área remanescente de Floresta Atlântica do Estado de Pernambuco, Brasil. *Acta Botanica Brasilica* 11: 105-113.
- Barros, I.C.L.; Silva, A.J.R. & Silva, L.L.S. 1989. Levantamento florístico das pteridófitas ocorrentes na zona das caatingas do estado de Pernambuco, Brasil. *Biologica Brasilica* 1: 143-159.
- Bozzola, J.J. & Russell, L.D. 1991. Electron microscopy. *In: Bozzola, J. J. & Russell, L. D.* (eds.) *Principles and Techniques for Biologists.* Jones & Bartlett, Boston. Pp. 40-61.
- Bresolin, A. 1979. Flora da restinga da Ilha de Santa Catarina. *Insula* 10: 1-54.
- Caruso, M.M.L. 1990. O desmatamento da Ilha de Santa Catarina de 1500 aos dias atuais. 2ª ed. Editora da UFSC, Florianópolis. 160p.
- CECCA. 1997. Unidades de conservação e áreas protegidas da Ilha de Santa Catarina. Caracterização e Legislação. Ed. Insular, Florianópolis. 160p.
- Chiou, W. & Farrar, D.R. 1997. Comparative gametophyte morphology of selected species of the family Polypodiaceae. *American Fern Journal* 87: 77-86.
- CONAMA. 1999. Resolução 261, que trata dos estágios sucessionais de vegetação de restinga para o estado de Santa Catarina. CONAMA, Diário Oficial da União, Brasília. 12p.
- Dyer, A.F. 1979. The culture of fern gametophytes for experimental investigation. *In: Dyer A.F.* (eds.) *The experimental biology of ferns.* Academic Press, London. Pp. 253-305.
- Gazda, V.; Gomes-Carneiro, M.R.; Barbi, N.S. & Paumgarten, F.J.R. 2006. Toxicological evaluation of an ethanolic extract from *Chiococca alba* roots. *Journal of Ethnopharmacology* 105:187-195.
- Graçano, D.; Azevedo, A.A. & Prado, J. 2001. Anatomia foliar das espécies de Pteridaceae do Parque Estadual do Rio Doce (PERD) - MG. *Revista Brasileira de Botânica* 24:333-347.
- Jaramillo, I.R.; Pérez-García, B. & Mendoza, A. 1996. Desarrollo del gametófito y del esporófito joven de *Niphidium crassifolium* (Filicales: Polypodiaceae S. Str.). *Revista de Biología Tropical* 44: 485-490.
- Jaramillo, I.R.; Pérez-García, B. & Mendoza, A. 2003. Morfogénesis de los gametófitos de especies mexicanas de *Pleopeltis* (Polypodiaceae, subfamilia Pleopeltoideae). *Revista de Biología Tropical* 51: 321-332.
- Labiak, P.H. & Prado, J. 1998. Pteridófitas epífitas da Reserva Volta Velha, Itapoá, Santa Catarina, Brasil. *Boletim do Instituto de Botânica* 11: 1-79.
- Lorscheitter, M.L.; Ashraf, A.R.; Windisch, P.G. & Mosbrugger, V. 2005. Pteridophyte spores of Rio Grande do Sul flora, Brazil. Part V. *Palaeontographica* 270:1-180.
- Mohr, H. 1956. Die Abhängigkeit des protonemawachstums und der protonemapolarität bei farnen von Licht. *Planta* 47: 127-158.
- Nayar, B.K. & Kaur, S. 1969. Types of protalial development in homosporous ferns. *Phytomorphology* 19: 179-188.
- Ogura, Y. 1972. Comparative anatomy of vegetative organs of the pteridophytes. *Gebrüder Borntraeger, Berlin.* 502p.
- Pérez-García, B; Riba, R.; Mendoza, A. & Reyes, I.J. 1998. Compared gametophytic development of three species of *Phlebodium* (Polypodiaceae, S.Str.). *Revista de Biología Tropical* 46: 1059-1067.
- Ramírez, R. & Pérez-García, B. 1998. Fase gametofítica del helecho *Microgramma nitida*

- (Polypodiaceae). *Revista de Biologia Tropical* 46: 587-593.
- Ranal, M.A. 1993. Desenvolvimento de *Polypodium hirsutissimum* Raddi (Pteridophyta, Polipodiaceae) em condições naturais. *Acta Botanica Brasilica* 7: 3-15.
- Salino, A. 2009. New combinations in *Pleopeltis* from southeastern Brazil. *American Fern Journal* 99: 106-108.
- Sant'Anna, J.R. de; Miguel O.G. & Alquini Y. 2001. Estudo morfo-anatômico de *Trichipteris atrovirens* (Langsd. et Fisch) Tryon. (Cyatheaceae). *Revista Visão Acadêmica* 2: 59-64.
- Schwartsburd, P.B. 2006. Pteridófitas do Parque Estadual de Vila Velha, Paraná, Brasil. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Paraná, Curitiba.
- Smith, A.R.; Pryer, K.M.; Schuettpelz, E.; Korall, P.; Schneider, H & Wolf, P.G. 2006. A classification for extant ferns. *Taxon* 55: 705-731.
- Sota, E.R. 1965. Las especies escamosas del género *Polypodium* L. (S.Str.) en Brasil. *Revista del Museo de La Plata (Botánica)* 42: 243-271.
- Strehl, T. & Miranda, A.L.B. 1997. Alguns aspectos da anatomia de *Polypodium hirsutissimum* Raddi (Pteridophyta – Polypodiaceae). *Iheringia, Série Botânica* 49: 21-32.
- Taiz, L. & Zeiger, E. 2004. *Fisiologia Vegetal*. Artmed, Porto Alegre. 719p.
- Tryon, R.M. 1972. Endemic areas and geographical speciation in tropical american ferns. *Biotropica* 4: 121-131.
- Tryon, R.M. & Tryon, A.F. 1982. *Ferns and allied plants with special reference to Tropical America*. Springer-Verlag, New York. 857p.
- Viviani, D. & Randi, A.M. 2008. Effects of pH, temperature and light on spore germination and growth analysis of young sporophytes of *Polypodium lepdopteris* (Pteridophyta, Polypodiaceae). *Rodriguésia* 59: 751-760.
- Zuloaga, F. Morrone, O. & Belgrano, M. J. 2007. Novedades taxonómicas y nomenclaturales para la flora vascular del cono sur de sudamérica. *Darwiniana* 45: 236-241.